

**UNTERSUCHUNGEN ZUR BILDUNG
VON TRYPTAMIN ALS STÖRFaktor BEI DER
IDENTIFIZIERUNG VON ALKALOIDEN IN
AUTOPSIE-MATERIAL**

von

Helmut Büttner

aus

Bramel/Kreis Wesermünde

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
em. Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

**UNTERSUCHUNGEN ZUR BILDUNG
VON TRYPTAMIN ALS STÖRFAKTOR BEI DER
IDENTIFIZIERUNG VON ALKALOIDEN IN
AUTOPSIE-MATERIAL**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Helmut Büttner

aus

Bramel/Kreis Wesermünde

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly
Referent: Prof. Dr. Dr. Geldmacher-v. Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. Dr. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 15.5.1973

1. Einleitung	1
2. Die Geschichte der Kunst	2
3. Die Kunst der Gegenwart	3

4. Die Kunst der Zukunft	4
5. Die Kunst der Vergangenheit	5
6. Die Kunst der Gegenwart	6
7. Die Kunst der Zukunft	7
8. Die Kunst der Vergangenheit	8
9. Die Kunst der Gegenwart	9
10. Die Kunst der Zukunft	10

11. Die Kunst der Gegenwart	11
12. Die Kunst der Zukunft	12
13. Die Kunst der Vergangenheit	13
14. Die Kunst der Gegenwart	14
15. Die Kunst der Zukunft	15
16. Die Kunst der Vergangenheit	16
17. Die Kunst der Gegenwart	17
18. Die Kunst der Zukunft	18
19. Die Kunst der Vergangenheit	19
20. Die Kunst der Gegenwart	20

21. Die Kunst der Zukunft	21
22. Die Kunst der Vergangenheit	22
23. Die Kunst der Gegenwart	23
24. Die Kunst der Zukunft	24

Meiner Frau gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A) EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	4
B) FÄULNISPRODUKTE, ENTSTEHUNG UND VORKOMMEN	5
C) EIGENE UNTERSUCHUNGEN	15
I. <u>Nachweis und Isolierung von Tryptamin</u>	15
1) Verwendetes organisches Material	15
2) Extraktion	16
3) Auftrennung durch Papierchromatographie	17
4) Identifizierung durch UV-Spektrographie	18
5) Identifizierung durch IR-Spektrographie	21
II. <u>Auftreten von Tryptamin</u>	23
1) Quantitative Bestimmung	23
2) Abhängigkeit von der Lagerungstemperatur	24
3) Abhängigkeit von der Lagerungsdauer	28
4) Stabilität	30
5) Ursachen des Auftretens von Tryptamin	32
Bakteriologische Untersuchungen	
6) Vorkommen außerhalb der Leber	34
D) ERGEBNISSE	35
E) DISKUSSION	37
F) ZUSAMMENFASSUNG	38
G) LITERATURNACHWEIS	39

A) EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die Bestimmung von basischen Arzneimitteln in Blut und Organen nach Autopsie gehört zu den häufig anfallenden Aufgaben der forensisch-toxikologischen Analyse.

Unter den verschiedenen geeigneten Methoden zum Nachweis von Alkaloiden sind vor allem Chromatographie und Spektrophotometrie hervorzuheben. Bei diesen Verfahren treten zuweilen Verunreinigungen auf, die leicht verwechselt werden können mit den gängigen basischen Arzneimitteln, da sie mit diesen sowohl manche Methoden zur Extraktion als auch viele Nachweisreaktionen gemeinsam haben.

Eine dieser häufig bei Autolyse auftretenden Beimengungen ist die Aminosäure Tryptamin.

In der vorliegenden Arbeit wird über die Isolierung und Identifizierung von Tryptamin aus Leber berichtet, und es wird versucht, Gesetzmäßigkeiten im Auftreten von Tryptamin bei der Autolyse und Fäulnis zu ermitteln.

B) FÄULNISPRODUKTE, ENTSTEHUNG UND VORKOMMEN

Innerhalb einer detaillierten Übersicht im Gesamtgeschehen von Fäulnis und Autolyse sind bei SCHMIDT (1969) deutliche Hinweise auf Fäulnisbakterien zu finden.

Hinsichtlich der Mikrobiologie unterschied er die Autolyse als aseptischen, d.h. ohne Mikroben ablaufenden Prozeß von der Fäulnis als einen Vorgang, der durch mikrobielle Zersetzung hervorgerufen werde.

Den raschen postmortalen Abbau und Umbau von Körperbestandteilen erklärte er so, daß innerhalb von wenigen Stunden nach dem Tode Massen von Darmbakterien auf dem Blutwege über die Gefäße in die Organe gelangten. Je nach der Bakterienbesiedlung des Magen-Darm-Kanals und der Körperöffnungen entwickle sich eine sogenannte Leichenflora. Sie bestehe im wesentlichen aus Colibakterien, Hefe- und Schimmelpilzen, Staphylokokken, Streptokokken, Proteusstämmen, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*-Arten, *Micrococcus albus liquefaciens*, *Micrococcus pyogenes*, *Clostridium Welchii*, *Bacillus putrificus tenius*, *Amylobacter*.

Als charakteristische Bestandteile der gefaulten Leiche führte der Autor auf:

Aminosäuren	Aromaten (aromatische Säuren)
Amine: Ptomaine, quaternäre Ammoniumbasen	Pettsäuren
Mercaptane	Fermente
Alkylsulfide und Alkylschwefelsäuren	Hormone
Kohlenwasserstoffe	Elektrolyte
Carbonsäuren	Leicht flüchtige Substanzen (NH_3 , CO_2 , Sulfide)
Alkohole	Apatit (Knochen, anorganische Substanz)
Ketone	
Aldehyde	Kollagen, Knorpel

Fäulnishemmend seien:

Antibiotica	Desinfektion
Verschiedene Metallgifte, Phosphor, Arsenik	Cyanide, CO, Flußsäure
Strychnin	Cicutoxin (Wasserschierling)
Austrocknung, Magerkeit	Ultraviolettbestrahlung
Fehlen geeigneter Erreger	Kälte

Dagegen würde die Fäulnis gefördert durch:

Bakterienwuchsstoffe	p-Aminobenzoesäure aus
Lipoidlösliche Narkotica (z.B. Äther)	Procain
Wärme	Feuchtigkeit
Bakterielle Infektion vor dem Tode	Fettreichtum
	starke Besiedlung mit Fäulnisserregern

Nach einiger Zeit, deren Dauer abhängig sei von Temperatur, Luftzutritt und Feuchtigkeit der Umgebung, gehe die Fäulnis mit vorwiegend anaeroben Prozessen in Verwesung über mit hauptsächlich aeroben Prozessen. Eine vollständige Unterbindung der bakteriellen und enzymatischen Zersetzungsprozesse werde erst durch Einfrieren (-10° bis -20° C) erreicht.

Der Autor vermerkte, daß Bakterien ähnliche Umsetzungen, Synthesen und Spaltungen vollbringen könnten wie die verschiedenen Fermente des menschlichen und tierischen Organismus. Bereits beim Lebenden bewirke die Art der Bakterienbesiedlung des Darmes Besonderheiten des individuellen Stoffwechsels; auch krankhafte Prozesse spielten hinein, wie vor allem chronische bakterielle Erkrankungen. Daher gestalte sich die Neubildung von Substanzen individuell je nachdem, von welchen Bakterienarten der Leichnam durchsetzt werde. Unter anderem ist darunter der Hinweis auf Decarboxylierung als mikrobielle Stoffwechselleistung zu finden.

Speziell proteolytische Fähigkeiten schrieb der Autor folgenden Bakterienarten zu:

Pseudomonas putrefaciens
Diplococcus magnis Prévot und
Streptococcus lanceolatus Prévot.

Die in der Leiche wachsenden Mikroben benützten die Körpersubstanzen als Substrat zur Synthese ihrer Zellen und Stoffwechselprodukte. Der Eiweißabbau führe über Peptone, Aminosäuren, Amine bis zu Schwefelwasserstoff, Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, auch zu Mercaptanen und Sulfiden, organischen Säuren und Alkoholen.

Abschließend bemerkte SCHMIDT, daß Fäulnisprozesse für den Analytiker deshalb von besonderer Bedeutung seien, weil Bakterienfermente u.U. auch Giftstoffe abbauten oder Körperbestandteile derart verändern könnten, daß Gifte oder giftähnliche Stoffe entstünden und Fäulnisprodukte geeignet seien, einfache Farbreaktionen zu stören. Eine positive Reaktion könne die Anwesenheit von Gift vortäuschen, wenn die betreffende Reaktion mit Störsubstanzen ebenfalls zustande käme.

Versuche über Fäulnis von Eieralbumin durch *Staphylococcus pyogenes aureus* führte bereits 1896 EMMERLING durch, und er isolierte dabei als flüchtige Basen Ammoniak und Trimethylamin.

ACKERMANN (1909) führte experimentell den Nachweis, daß Fäulnisbakterien nicht nur Eiweiß, sondern auch dessen kleinere Spaltprodukte zur Bildung von Fäulnisbasen,

nämlich Tetra- und Pentamethyldiamin und p-Oxyphenylamin, verwerten können.

SASAKI und OTSUKA (1921) arbeiteten ebenfalls mit Bakterien und stellten beim Abbau des l-Tryptophans durch Proteusbakterien fünf verschiedene α -Oxysäuren dar.

Eine ausführliche Darstellung über die chemischen Abbaureaktionen bei Leichenzersetzung gab SPECHT (1937). Damit war eine Grundlage gegeben, die einen Überblick über jene Prozesse verschaffte, die beim Abbau von Eiweiß, Kohlenhydraten und Fetten vor sich gehen.

Eine detaillierte Arbeit über die Bildung von Bernsteinsäure in faulenden Leichenteilen liegt von WEINIG und SCHMIDT (1961) vor. Bernsteinsäure wurde in Muskulatur und Niere gefunden, am meisten jedoch in der Leber. Frische Leichenorgane, nach Stas-Otto oder Valov verarbeitet, wiesen nie nennenswerte Mengen von Bernsteinsäure auf; diese war aber fast regelmäßig nach Einsetzen der Fäulnis vorhanden. Je stärker der Fäulnisgrad, desto mehr Bernsteinsäure konnte gefunden werden. Das zeitliche Auftreten schien von Art und Intensität der Fäulnisvorgänge abzuhängen. Bei blühender Leichenfäulnis in der heißen Jahreszeit und Lagerung einer Leiche bei Außentemperaturen war nach zwei bis drei Tagen der Höhepunkt

der Bernsteinsäurebildung erreicht, während die Autoren bei Aufbewahrung von Leichenteilen im Kühlraum nach 8 - 14 Tagen die meiste Bernsteinsäure fanden.

Es wurde daraus gefolgert, daß zur postmortalen Entstehung von Bernsteinsäure in Organen durch Eiweißfäulnis bestimmte optimale Bedingungen vorhanden sein mußten, so auch Erreger, die Bernsteinsäure bilden konnten, was bei Colibakterien der Fall war. Weiterhin mußte ein pH-Optimum vorhanden sein; auch war der Fäulnisabbau der Organteile durch Bakterien, Pilze und Hefen abhängig vom Sauerstoffgehalt.

Zusammenfassend wurde die Bildung von Bernsteinsäure als Indikator für die Tätigkeit gewisser Mikrobenarten angesehen.

MAROZZI und LODI (1962) trennten aus faulenden Organen gewonnene Extrakte papierchromatographisch auf und identifizierten von 125 Substanzflecken 37 durch UV-Spektrometrie. Die Extrakte wurden aus Eingeweiden unterschiedlichen Fäulnisgrades gewonnen.

CATTABENI, MAROZZI und LODI veröffentlichten 1962 ihre systematisch-analytischen Beobachtungen über Fäulnisveränderungen, wobei Ptomaine vor allem in der Leber gefunden und durch Extraktion mit Amylalkohol isoliert wurden.

Den autolytischen Umbau erklärten sie durch Aufnahme von atmosphärischem Sauerstoff bei Lagerung der Leichenteile an freier Luft.

FULTON (1966) sprach von Stoffwechselleistungen der Fäulnisbakterien: ihrer Fähigkeit, durch Decarboxylierung von Aminosäuren diese zu Fäulnisbasen abzubauen.

Bei spektrophotometrischen Untersuchungen von Extrakten fauler Leber isolierte BORKOWSKI (1967) das Alkaloid Yohimbin und beobachtete dabei auch sporadisch eine Substanz, die in ihren spektrographischen Eigenschaften dem Brucin entsprach.

MAROZZI und BOISIO ermittelten 1969 bei Untersuchungen über konserviertes biologisches Material, daß verschiedene, im alkalischen Milieu mit Äther gewonnene Extrakte Interferenzen endogenen Ursprungs enthielten, wobei sie unter anderen einen Stoff eluierten, der ein Verhalten ähnlich dem des Tryptamins zeigte. In Zusatzversuchen wurde die Identität dieses Amins bestätigt. Organteile wurden nach Stas-Otto extrahiert und die basischen Ätherextrakte nach Jatzkewitz papierchromatographisch aufgetrennt. Tryptophanderivate fanden sie am häufigsten in Leberextrakten.

Wohl die umfassendsten Arbeiten der letzten Jahre über Störsubstanzen bei der Bestimmung von Giften in Autopsiematerial brachte KAEMPE (1964-1966).

Er isolierte und identifizierte aus faulenden Organen:

p-Hydroxyphenyläthanol
p-Hydroxyphenylacetessigsäure
p-Hydroxybenzoesäure
p-Hydroxybenzaldehyd
T r y p t a m i n
ß-Phenyläthylamin
Tyramin
5-Hydroxymethylfurfurol
Nicotinamid
Uracil
Thymin

Er beschrieb, wie die Substanzen zu isolieren sind und wie man sie weiter trennen kann von den basischen und sauren Giften, die in derselben Extraktionsphase erscheinen.

Als Untersuchungsmaterial bei der Bestimmung von T r y p t a m i n verwendete KAEMPE (1965) eine einzelne menschliche Leber, die zerteilt drei Jahre lang bei 4-5° C aufbewahrt wurde. Durch vorangegangene gerichtskemische Untersuchung war kein Gift irgendwelcher Art in der Leber entdeckt worden.

Die Extraktion aus 50 g Leber wurde nach einem modifizierten Verfahren ähnlich der Stas-Otto-Methode durchgeführt. Nach Verdampfen des Ätherextraktes wurden durch Sublimation bei 90°C und einem Druck von 5mm Hg lange, glitzernde, weiße Kristalle gewonnen in einer Menge von etwa 1 mg. Der Schmelzpunkt der isolierten Substanz lag bei 103°C . Diese Konstanten sowie die Infrarot- und Ultraviolett-Spektren erwiesen sich identisch mit den in der Literatur vorkommenden Angaben für Tryptamin, obgleich der Schmelzpunkt in der Literatur recht unterschiedlich angegeben war.

Zur Sicherung wurde aus reinem Tryptaminchlorid mit Zusatz von 2n-NaOH durch Ätherextraktion die Base isoliert und nach Eindampfen der Rückstand sublimiert bei gleichen physikalischen Konstanten wie oben beschrieben. Man erhielt wieder die gleichen Kristalle. Deren infrarote und ultraviolette Spektren wurden aufgezeichnet.

Ein Vergleich der Werte zwischen der aus verfaultem Lebergewebe erhaltenen kristallinen Substanz und der isolierten Tryptaminbase ergab die Identität beider Substanzen.

Reines Tryptaminchlorid als auch die isolierte und sublimierte Tryptaminbase ergaben bei Chromatographie auf der mit Partridge & Westall-Reagenz entwickelten Kiesel-

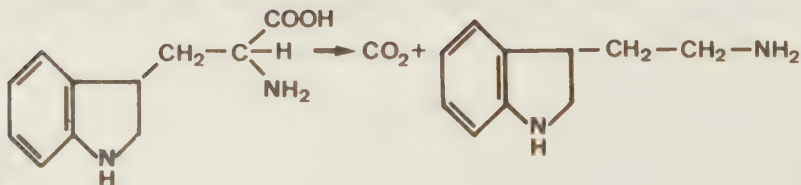
gelplatte nach Besprühen mit Diazo-p-nitroanilin einen gelben Fleck ($R_f = 0,5$). Auf dem Papierchromatogramm war Tryptamin als ein dunkler Fleck sichtbar im UV-Licht von 254 nm Wellenlänge.

Zusammenfassend kam KAEMPE zu dem Resultat, daß Tryptamin zwar in der gleichen Weise extrahiert wird wie die meisten allgemein vorkommenden Alkaloide, daß es aber durch Papierchromatographie trennbar ist, weil jene einen höheren R_f -Wert haben als Tryptamin. Eine Ausnahme sei Morphin, das aber in stark alkalischem Milieu, anders als Tryptamin, nicht durch Chloroform oder Äther extrahierbar ist. Da Tryptamin bei Entwicklung der Papierchromatogramme mit Jodoplatinat oder Dragendorffs Reagenz nicht reagiere, werde es bei Untersuchungen auf Alkaloide keine falschen Reaktionen verursachen.

KAEMPE (1967) nimmt an, daß, wie zu erwarten, Tryptamin aus Tryptophan durch Decarboxylierung entsteht, was aus nachfolgenden Formeln ersichtlich ist.

TRYPTOPHAN

TRYPTAMIN



C) EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Nachweis und Isolierung von Tryptamin

1) Verwendetes organisches Material

Als Untersuchungsmaterial verwendeten wir Lebern von 23 Leichen. Durch gerichtskemische Voruntersuchungen konnten wir die Verarbeitung von Proben ausschließen, die von Vergiftungsfällen stammten. In der überwiegenden Mehrzahl entnahmen wir die Lebern von Unfalltoten.

Unmittelbar auf die Sektion folgend wurden 7 Lebern in den Kühlschrank von $+ 4^{\circ} \text{C}$ gestellt, weitere 6 wurden geteilt, um vom gleichen Organ Proben sowohl gekühlt als auch bei Zimmertemperatur zu lagern. 10 Lebern wurden nach der Sektion bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Zur Lagerung im Raum und im Kühlschrank waren die Lebern in ihrem Gefäß zwar abgedeckt, aber nicht absolut luftdicht verschlossen.

Die längste Lagerungsdauer bei Zimmertemperatur eines untersuchten Leberteiles betrug 29 Monate; bei Kühlschranktemperatur von $+ 4^{\circ} \text{C}$ betrug die längste Lagerungszeit 12 Monate.

2) Extraktion

Während MAROZZI und BOISIO (1969) und CATTABENI (1962) mit der Alkohol-Fällungsmethode nach Stas-Otto extrahierten, arbeiteten wir mit der verbesserten "Methode zur schnellen Isolierung basischer Arzneimittel aus Geweben sowie deren Reinigung und Identifizierung" nach GOLDBAUM und WILLIAMS (1959), die noch Mikrogramm-Mengen basischer Verbindungen zu erfassen gestattet.

GOLDBAUM gibt folgende Arbeitsvorschrift an:

50 g Gewebe (Lunge, Leber, Niere oder Gehirn) + 50 ml Wasser werden homogenisiert, 10 ml gesättigte NaOH zugesetzt und mit 400 ml Äther im Schliffenmeyer ausgeschüttelt.

300 ml Äther werden abgetrennt und mit 75 ml 0,5 n Schwefelsäure einige Minuten geschüttelt. Die basischen Verbindungen gehen dann als Sulfat in die Wasserphase. Diese wird wiederum abgetrennt, mit starker NaOH basisch gemacht und mit 200 ml Äther ausgeschüttelt. Der Ätherextrakt wird mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Auf dem Papierchromatogramm wird als Vergleich Brucin aufgetragen. Nach der Trennungsmethode von JATZKEWITZ (1953) dient als Laufmittel Butanol-Ameisensäure (im Verhältnis 7 : 2 : 5 Butanol : Ameisensäure : Wasser).

Aus eigenen Untersuchungen ist zu bemerken, daß nach dem Schütteln im Erlenmeyer (Homogenat + 400 ml Äther) nach erfolgter Trennung die Ätherphase sofort abgegossen werden muß, da diese in manchen Fällen sehr schnell

gallertig eindickt.

Da wir, um eine methodische Untersuchung des Fäulnisvorgangs durchführen zu können, von einer Leber in regelmäßigen Abständen Proben entnehmen mußten, beschränkten wir uns in vielen Fällen auf Entnahme von 10 g Gewebe. Die Mengenangaben der Arbeitsvorschrift rechneten wir dann auf die veränderte Ausgangsgröße um.

3) Auftrennung durch Papierchromatographie

Der eingedampfte Extraktionsrückstand wurde mit 0,5 ml Äthanol aufgenommen und davon je 0,04 ml auf einen Startpunkt des Papierchromatogramms aufgetragen.

Wir verwendeten als Vergleich Brucin, als Laufmittel Butanol-Ameisensäure (im Verhältnis 7 : 2 : 5 Butanol : Ameisensäure : Wasser) nach JATZKEWITZ (1953).

Nach der Auftrennung waren bei Betrachtung der Papierchromatogramme unter UV-Licht einer Quarzlampe von 254 nm Wellenlänge bei einigen Chromatogrammen starke Absorptionen zu bemerken, die einen Rf-Wert von 0,5 zeigten.

Bei der Entwicklung mit Muniers-Reagenz (Lösung A: 0,85 g Wismutsubnitrat, 40 cm³ Aqua dest., 10 cm³

Eisessig - Lösung B: 20 g Kaliumjodid, 50 cm³ Aqua dest., zum Besprühen mischen: 10 cm³ Lösung A + B = Stammlösung, 20 cm³ Eisessig, ad 100 ml Aqua dest.) gab es keine Farb-reaktion, während nach Besprühen mit Diazoreagenz (Diazotierte Sulfanilsäure, p-Diazo-benzolsulfonsäure) + 10 %-iger Sodalösung jene Absorption eine intensive Gelbfärbung zeigte.

4) Identifizierung durch UV-Spektrographie

Ein unter der UV-Lampe lokalisierter, nicht mit Sprühreagenzien behandelter Flecken wurde aus dem Chromatogramm herausgeschnitten und 20 min in 3 ml 0,5 n H₂SO₄ eluiert.

Der Schwefelsäureextrakt wurde in Quarzküvetten gefüllt und die darin enthaltene extrahierte alkalische Substanz UV-spektrographisch im Bereich von 360 - 220 nm mit einem selbstregistrierenden Spektralphotometer Modell DK 2 der Firma Beckman untersucht.

Anschließend wurde die Messung wiederholt mit zuvor durch conc. NaOH alkalisch gemachter Meßlösung.

Wir erhielten folgende UV-Absorptionskurven:

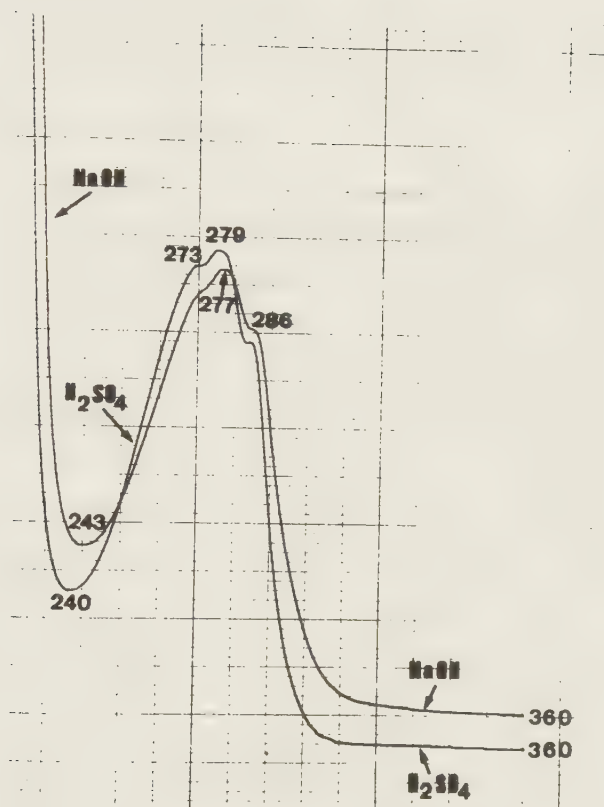


Abb. 1 UV-Spektrogramme von der aus faulender Leber isolierten Fraktion, gemessen in saurem und basischem Milieu

Nach Aufarbeitung von authentischem Tryptaminchlorid zur Base in der oben beschriebenen Weise erhielten wir folgendes UV-Spektrogramm:

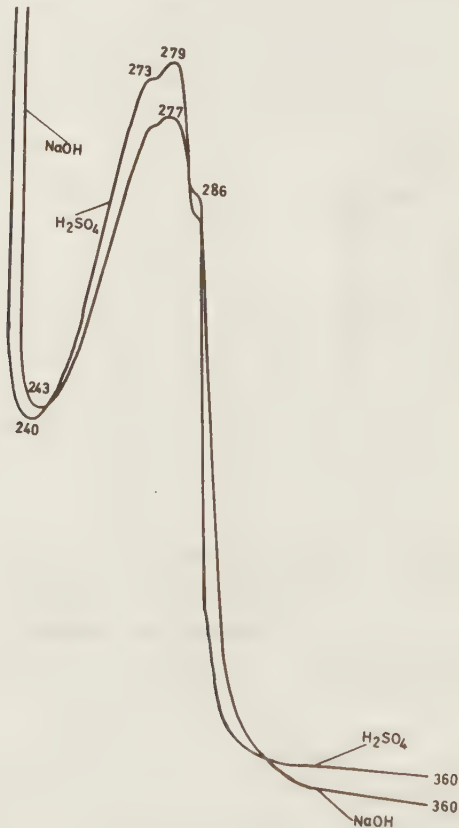


Abb. 2 UV-Spektrogramme von authentischem Tryptamin, gemessen in saurem und basischem Milieu.

Wie sich bei Betrachtung der beiden Abbildungen ergibt, sind die Kurven identisch.

5) Identifizierung durch IR-Spektrographie

Zur Sicherung unseres Ergebnisses führten wir eine Messung im Infrarotbereich durch.

Um die dafür nötigen Mengen der zu messenden Substanz zu erhalten, wurde der nach GOLDBAUM und WILLIAMS (1959) aus fauler Leber gewonnene und dann eingedampfte Ätherextrakt in 0,5 ml Äthanol aufgelöst und die gesamte Menge auf ein Papierchromatogramm strichförmig aufgetragen, wovon nach Entwicklung nur ein schmaler äußerer Streifen mit Detektionsreagenzien besprüht wurde.

Ein Streifen in Höhe der intensiv-gelben Diazofärbung wurde herausgeschnitten und mit 25 ml 0,5n H_2SO_4 eluiert. Nach etwa 1 Std wurde die Schwefelsäure abgegossen, aufgefangen und auf die Chromatogrammpapierschnitzel erneut die gleiche Menge 0,5n H_2SO_4 gefüllt. Nach weiteren 15 min Eluieren wurde der gesamte Schwefelsäureextrakt alkalisch gemacht und im Scheidetrichter mit 90 ml Chloroform extrahiert. Die wässrige Phase wurde erneut ausgeschüttelt und die so erhaltenen vereinigten Chloroformextrakte mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und über dem Wasserbad eingedampft.

Der erhaltene Rückstand brauchte bei Zimmertemperatur 10 - 14 Tage, um so auszukristallisieren, daß er im

Mörser zusammen mit Kaliumbromid zur Vorbereitung des Preßlings verrieben werden konnte.

Unsere isolierte Substanz zeigte das folgende IR-Spektrum:

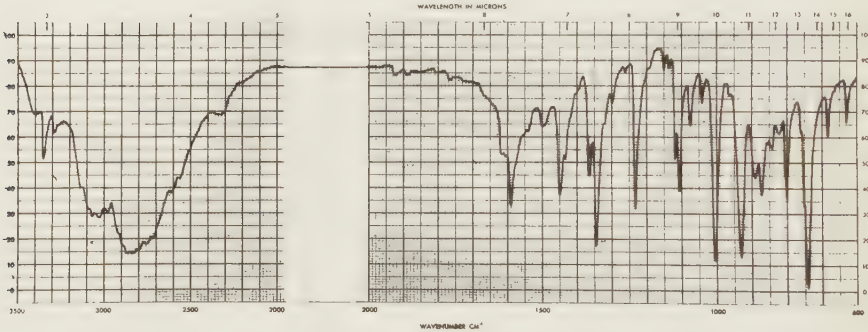


Abb. 3 IR-Spektrogramm von der aus faulender Leber isolierten Substanz

Dieses Spektrum entspricht völlig dem von authentischem Tryptamin, wie ein Vergleich mit Abb. 4 zeigt.

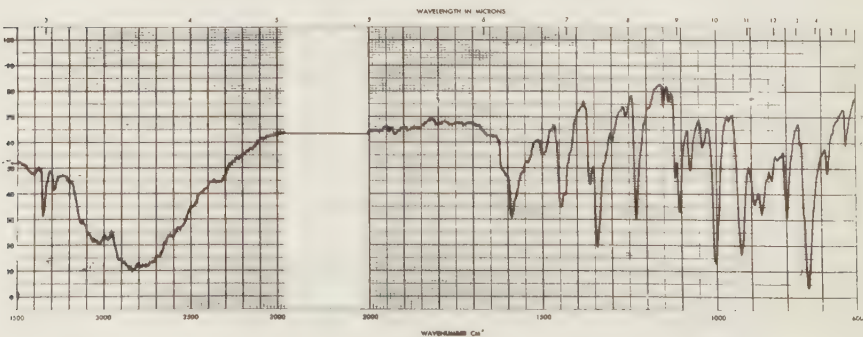


Abb. 4 IR-Spektrogramm von authentischem Tryptamin

II. Auftreten von Tryptamin

1) Quantitative Bestimmung

Zur Berechnung der Konzentration an Tryptamin pro Gewichtseinheit fauler Leber wurde eine Eichkurve erstellt.

Dazu wurde eine Lösung von reinem Tryptamin in 0,5 n H_2SO_4 hergestellt und bei verschiedenen Verdünnungsstufen spektralphotometrisch die Extinktion im Maximum der Kurve bei 279 nm gemessen.

Der Zusammenhang zwischen Extinktion und Tryptaminkonzentration, gemessen in $\mu\text{g}/\text{ml}$, ist in folgender Eichkurve wiedergegeben.

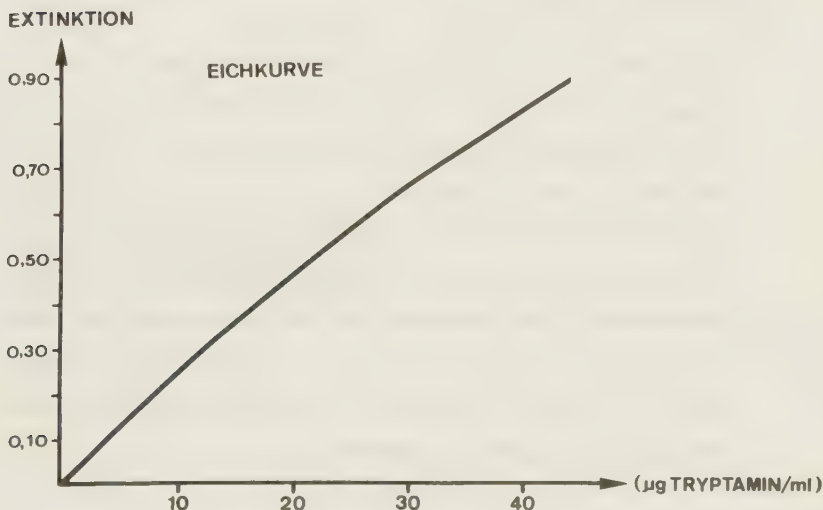


Abb. 5 Eichkurve

2) Lagerungstemperatur

Wie schon anfangs erwähnt, wurden unmittelbar auf die Sektion folgend 7 Lebern in den Kühlschrank von $+ 4^{\circ} \text{C}$ gestellt, weitere 6 wurden geteilt, um vom selben Organ Proben sowohl gekühlt als auch bei Zimmertemperatur zu lagern. 10 Lebern wurden nach der Sektion bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Bei 152 vorgenommenen Einzelproben, aufgearbeitet nach der in Kap. I, 2) beschriebenen Methode, entfielen 69 auf kühlschrankgelagerte Lebern, die verbleibenden 83 Proben entnahmen wir Lebern, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden.

Von jenen 6 Lebern, die wir teilten und damit gleiches Ausgangsmaterial erhielten, das wir nur unterschiedlicher Temperatur aussetzten, extrahierten wir die Fäulnisbase Tryptamin gemäß dem in Kap. I, 2), 3), 4) beschriebenen Vorgehen. In regelmäßigen Zeitabständen entnahmen wir von Lebern beider Lagerungsarten zur Untersuchung je 10 g Gewebe. Der Tryptamingehalt pro Gewichtseinheit fauler Leber wurde im Vergleich zwischen den jeder Probe zugehörigen UV-Absorptionsspektren und der Eichkurve (Abb. 5) ermittelt.

Die Abhängigkeit zwischen Tryptaminbildungsgeschwindigkeit und Lagerungstemperatur ist aus Tabelle A ersichtlich.

Tabelle A Einfluß der Lagerungstemperatur auf den Tryptamingehalt von 3 repräsentativen Lebern (A, B, C) nach Lagerung im Kühlschrank bzw. bei Zimmertemperatur

Leber	Kühlschranklagerung		Zimmertemperaturlagerung	
	Dauer bis z. erstmaligen Auftreten v. Tryptamin Tage	Dauer bis zum Erreichen der maximalen Konzentration Tage	Dauer bis z. erstmaligen Auftreten v. Tryptamin Tage	Dauer bis zum Erreichen der maximalen Konzentration Tage
A	70	93	30	60
B	8	17	4	13
C	Von Kühlschrankproben konnte noch nach 1 Monat kein Tryptamin nachgewiesen werden.		4	22

Weiterhin sollte untersucht werden, welche Maximalkonzentrationen an Tryptamin bei der Fäulnis von Lebergewebe erreicht würden.

Den Zusammenhang zwischen Konzentration und Lagerungstemperatur zeigt Abb. 6:

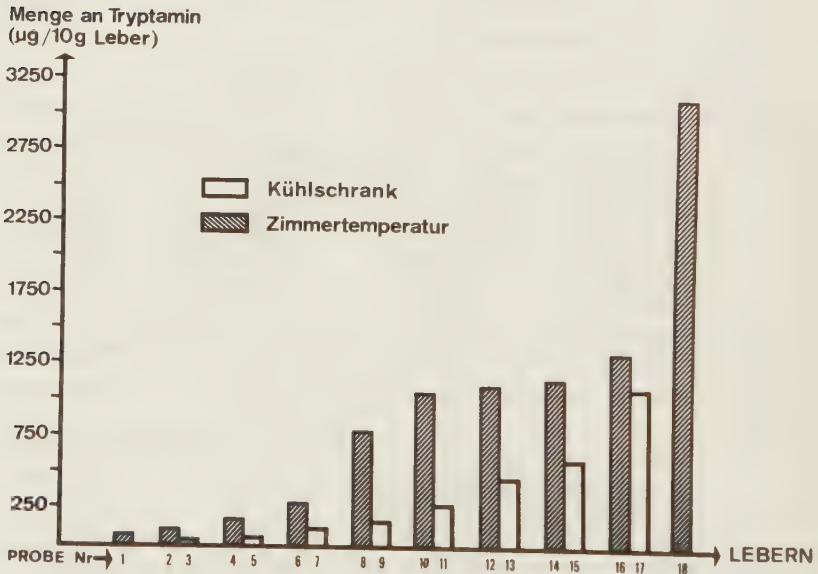


Abb. 6 Erreichte Maximalkonzentrationen bei Lagerung im Kühlschrank von + 4° C und bei Zimmertemperatur

Wir stellten fest, daß die Zimmertemperatur gegenüber der Temperatur eines Kühlschranks von + 4° C die Entstehung von Tryptamin begünstigte. Von den tryptaminhaltigen 76 Proben entfielen 55 (72 %) auf Lebern, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, 21 Proben (28 %) auf Proben mit Lagerung im Kühlschrank.

Die kühle Aufbewahrung verhinderte also nicht das Auftreten von Tryptamin; dessen Bildung wurde aber durch niedrige Temperatur verzögert, wie die Gegenüberstellung einiger Kühlschrank- und Zimmertemperaturproben derselben Lebern in Tabelle A zeigte.

Wie es bei anderen Fäulnisprodukten auch KAEMPE (1967), BORKOWSKI (1967), WEINIG und SCHMIDT (1961) beschrieben, wurden darüber hinaus bei Lagerung des Lebergewebes bei Zimmertemperatur wesentlich höhere Konzentrationen an Tryptamin erreicht als bei Aufbewahrung im Kühlschrank (siehe Abb. 6).

3) Lagerungsdauer

Während des Untersuchungszeitraumes von 29 Monaten wurden nach Aufarbeitung von Lebergewebe mit jenen Methoden, wie sie in Kapitel I, 2) und I, 3) beschrieben worden sind, sich ständig ändernde Konzentrationen an Tryptamin gemessen.

Zu- und Abnahme an Tryptamin im Verlauf der Lagerungsdauer ist aus der folgenden graphischen Darstellung an einem repräsentativen Fall zu ersehen.

Menge an Tryptamin
($\mu\text{g}/10\text{g Leber}$)

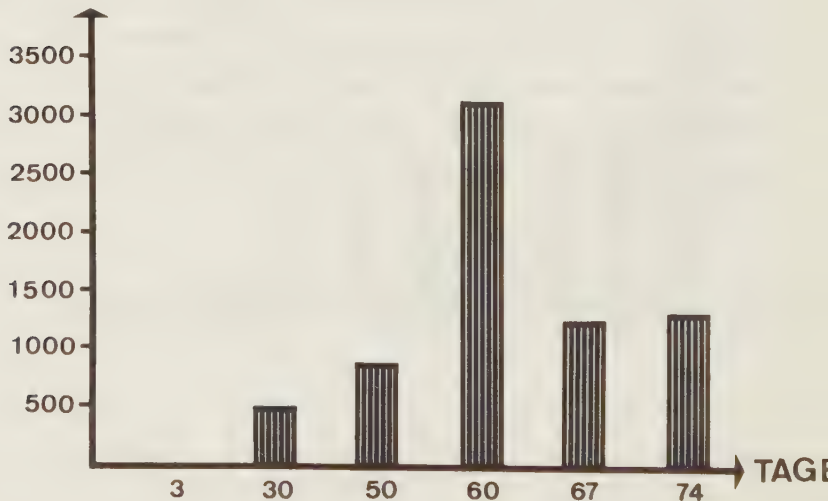


Abb. 7

Unsere Meßwerte ergaben also einen Konzentrationsanstieg, ein Maximum und ein Abfallen der Menge an Tryptamin im Lebergewebe.

Wir stimmen darin mit WEINIG und SCHMIDT (1961) überein, die bei Untersuchungen über Bernsteinsäure diesen Konzentrationsanstieg und -abfall ebenfalls festgestellt haben. CATTABENI, MAROZZI und LODI (1962) ermittelten ein Konzentrationsmaximum verschiedener Gruppen von Fäulnisbasen aus Leber bereits zwischen dem zweiten und vierten Bestimmungstag.

Der nicht kontinuierliche Anstieg und Abfall der Konzentration an Tryptamin ist wohl darauf zurückzuführen, daß jede Probe, die wir von der Gesamtleber entnahmen, unterschiedliche Mengen dieser Fäulnisbase enthielt und wir es nicht mit einem völlig homogenen Ausgangsmaterial zu tun hatten.

So entnahmen wir an ein und demselben Tage von einer Leber 6 Proben à 10 g und erhielten folgende Werte:

Tabelle B

Unterschiedlicher Tryptamingehalt von 6
gleichzeitig entnommenen Proben (I - VI)
aus einer einzelnen Leber

Probe	Menge an Tryptamin µg/10 g Leber	Abweichung vom Mittelwert %
I	1690	+ 31
II	650	- 50
III	1240	- 4
IV	1090	- 15
V	1300	+ 9
VI	1760	+ 37

Mittelwert M:

$$7730 : 6 = 1288,3$$

Bei anderen gleichzeitig entnommenen Proben aus einer anderen Leber fanden wir Abweichungen von - 28 %, + 29 %, + 12 %, - 12 %.

Wir verzichteten darauf, die ganze Leber zu Beginn zu homogenisieren und jeweils die entsprechende Menge Homogenat zu entnehmen, da bei Sektionen ja auch Gewebs s t ü c k e untersucht werden und wir in unseren Experimenten der toxikologischen Alltagspraxis in der Methodik nahekommen wollten.

4) Stabilität

Bei 1 Std langer Aufbewahrung eines Preßlings (Tryptamin und Kaliumbromid) im Trockenschrank von 100°C war das Tryptamin zerfallen. Bei anschließender spektralphotometrischer Messung ergab die Substanz keine Absorptionskurve mehr.

Es ist deshalb Vorsicht geboten beim Trocknen der Papierchromatogramme im Trockenschrank, wo die Temperatur 70°C nicht übersteigen sollte.

Tryptamin, aus fauler Leber isoliert und nach der in Kapitel I, 5) beschriebenen Methode aus dem Chromatogrammpapier eluiert, wurde nur zum Teil für spektrophotometrische Messungen aufgebraucht. Der übrige Teil verblieb in Schälchen und wurde, durch Polyäthylenfolie abgedeckt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Nach Verlauf von 7 Monaten war durch spektrophotometrische Untersuchung (sowohl IR als auch UV) keine nennenswerte Extinktion mehr festzustellen. Das Tryptamin mußte also weitgehend zerfallen sein.

Daraus schließen wir, daß die Stabilität von Tryptamin sowohl temperatur- als auch zeitabhängig ist.

5) Ursachen des Auftretens von Tryptamin

Bakteriologische Untersuchungen

KAEMPE (1967) nennt 5 Ursachen für die Herkunft der Störsubstanzen:

1. Normalerweise vorkommende Umbauprodukte
2. Postmortal entstandene Fäulnisprodukte
3. Artefakte
4. Andere Gifte und ihre Umbauprodukte
5. Substanzen in Lebensmitteln (Artefakte, Konservierungsmittel usw.)

Wie auch SCHMIDT (1969) nehmen wir an, daß Fäulnisbakterien verantwortlich sind für die Entstehung von Tryptamin. Welcher Art die Beteiligung der Fäulnisbakterien am Stoffwechsel ist, als dessen eines Zwischenprodukt das Tryptamin auftaucht, darüber äußern die in der Einleitung erwähnten Autoren unterschiedliche und oft widersprüchliche Ansichten.

Sollte die Decarboxylierung des Tryptophans zu Tryptamin auf eine Stoffwechselleistung von Bakterien zurückzuführen sein, so kämen hierfür einige Streptokokkenstämme in Frage, wie es in ähnlichem Zusammenhang BOULTON (1970) und Mitarbeiter beschrieben.

Um diese Frage zu klären, führten wir bakteriologische Untersuchungen durch:

Drei Lebern, die während je einmonatiger Kontrolle auch nach 11-monatelanger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur nach Aufbereitung gemäß dem in Kap. I, 2), 3), genannten Verfahren papierchromatographisch (Detektion mit dem Diazo-Reagens) keine positive Reaktion zeigten und bei Messung im Bereich von 360 - 220 nm keine Absorptionskurve ergaben, wurden geimpft mit Abstrichmaterial von einer positiven Probe. Nach weiteren 2 Monaten erwiesen sich die bislang negativen Proben auch als tryptaminhaltig und ergaben bei spektrophotometrischer Untersuchung eine intensive Extinktion.

Während die negative Probe bakteriologisch eine unspezifische Mischkultur zeigte, enthielt die tryptaminhaltige Gewebprobe eine Reinkultur, und zwar Gram-positive Stäbchen, Sporenbildner, die aerob nur auf Blutagar wuchsen, also hohe Nährbodenansprüche hatten.

In gleicher Weise beschrieb auch BIENSTOCK (1899) jene Bakterienart als Repräsentant der verschiedensten Gruppen von Fäulnisprodukten und nannte sie bac. putrificus coli. Es seien, laut Autor, nur Bakterien r e i n k u l t u r e n für das Auftreten bestimmter Eiweißzerfallsprodukte verantwortlich.

Untersuchungen über die tryptaminbildende Bakterienart sind zur Zeit im Hygienischen Institut II der Universität Erlangen im Gange.

Bei SCHMIDT (1969) läßt sich eine Erklärung für das Verdrängen von Mischkulturen zugunsten einer Reinkultur finden: Auf faulenden organischen Geweben wüchsen je nach Feuchtigkeitsgehalt der Umgebung aerobe Pilzrasen, die eine große Zahl von A n t i b i o t i k a bilden könnten.

6. Vorkommen außerhalb der Leber

Tryptamin war auch in Niere und Blut nachzuweisen, dort allerdings in geringerer Konzentration als in der Leber.

Blut und Leber, von der gleichen Sektion am gleichen Tag untersucht, ergab bei Blut einen um 38 % niedrigeren Tryptamingehalt. Das ließe sich darauf zurückführen, daß die beteiligten Fäulnisbakterien ihre hohen Nährbodenansprüche am besten im Lebergewebe vorfinden.

D) ERGEBNISSE

Bei den von 23 Leichen entnommenen Lebern fanden wir in 14 Fällen (61 %) mit der Extraktionsmethode nach GOLDBAUM und WILLIAMS (1959) und Identifizierung durch IR- und UV-Spektrophotometrie die Aminosäure Tryptamin; in den restlichen 9 Fällen (39 %) trat Tryptamin trotz langer Lagerungsdauer (im längsten Fall 29 Monate) nicht auf.

Wir unterscheiden uns damit im Ergebnis von KAEMPE (1967), der bei Untersuchungen über Tyramin schon von 30 Tagen ab bis zu 18 Monaten Untersuchungsdauer jeweils 100 % positive Proben vorfand.

Bei 152 vorgenommenen Einzelproben aus den 23 Lebern zeigten 76 (50 %) auf dem Papierchromatogramm nach Detektion mit dem Diazo-Reagens eine positive Reaktion und ergaben bei UV-Spektrophotometrie charakteristische Absorptionskurven, enthielten also Tryptamin. In den verbleibenden 76 Proben konnte kein Tryptamin nachgewiesen werden.

Daß bei der Untersuchung an Leberteilproben der Anteil an negativen Proben höher liegt als vorstehend erwähnter Anteil an den Gesamtlebern, ist derart zu begründen, daß zu Fäulnisbeginn meistens die Tryptaminkonzentration unter der Nachweisgrenze lag.

Während der Untersuchungen zeigte sich, daß die Zimmertemperatur gegenüber der Temperatur eines Kühlschranks von $+ 4^{\circ} \text{C}$ die Entstehung von Tryptamin begünstigte. Die kühle Aufbewahrung verhinderte aber nicht das Auftreten von Tryptamin. Bei Zimmertemperaturlagerung wurden wesentlich höhere Konzentrationen an Tryptamin erreicht als bei Aufbewahrung im Kühlschrank.

Im Verlauf der Lagerungsdauer war ein Konzentrationsanstieg, ein Maximum und ein Abfallen der Menge an Tryptamin im Lebergewebe festzustellen.

Tryptaminhaltige Lebergewebsproben zeigten eine Reinkultur an Bakterienbesiedlung, während negative Proben eine unspezifische Mischkultur enthielten.

Bei völligem Fehlen von Tryptamin in Leber, die unter fäulnisbegünstigenden Bedingungen aufbewahrt wurde, konnte dennoch 2 Monate später Tryptamin isoliert und spektralphotometrisch identifiziert werden nach Impfung aus Abstrichmaterial von einer positiven Probe. Bakterien könnten also die Tryptaminbildung verursacht haben.

E) DISKUSSION

Wie Tryptamin als Störsubstanz zu trennen ist bei der Prüfung von Leichenorganen auf basische Gifte, die in derselben Extraktionsphase erscheinen, ist von KAEMPE (1964) beschrieben worden.

Unsere Arbeit sollte aber weiterführend unter anderem auch klären helfen, unter welchen Umständen Tryptamin in Autopsie-Material auftaucht und unter welchen Bedingungen mit Tryptamin als Störsubstanz zu rechnen ist.

Es konnte aber weder ein Zusammenhang festgestellt werden bezüglich des Zeitraumes, der zwischen Todeszeitpunkt und Sektion (und damit toxikologischem Untersuchungsbeginn) lag und dem Auftreten oder Ausbleiben von Tryptamin, noch besteht eine signifikante Verbindung zum Alter der Verstorbenen oder deren direkter Todesursache.

Zur Klärung der Frage, welche Faktoren in ihrer Gesamtheit zusammentreffen müssen, um das Auftreten von Tryptamin zu provozieren, werden weiterführende bakteriologische Untersuchungen notwendig sein.

Vor allem bleibt zu ermitteln, ob es sich bei jenen Fäulnisbakterienstämmen, deren Anwesenheit in faulenden Organen mit der Bildung von Tryptamin einhergeht, um Anflug-

keime handelt, oder ob, wie der Veröffentlichung von SCHMIDT (1969) zu entnehmen ist, eine spezifische Darmflora die Voraussetzung sein muß für die Infiltration von Keimen, die gewisse fäulnisbedingte Prozesse auslösen.

F) ZUSAMMENFASSUNG

Eine der Verunreinigungen, die in Analysen für basische Gifte und Arzneimittel bei papierchromatographischer Trennung auftauchen, ist durch IR- und UV-Spektrophotometrie als Tryptamin identifiziert worden.

Wir haben beschrieben, wie die Substanz zu isolieren und quantitativ zu messen ist, ermittelten ihr Auftreten in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur und stellten Untersuchungen über ihre Entstehung an.

G) LITERATURNACHWEIS

1. ACKERMANN, D.:
Über die Entstehung von Fäulnisbasen.
Z. Physiol. Chem. 60, 482 (1909)
2. BIENSTOCK:
Untersuchungen über die Aetiologie der Eiweiß-
fäulnis.
Arch. f. soz. Hyg. 36, 335 (1899)
3. BORKOWSKI, T.:
Spectrophotometric Investigations of Liver
Extracts in the Course of Putrefaction.
XXI. Intern. Kongr. f. Reine und Angew.
Chem. Prag (4. - 10.9.1967)
4. BOULTON, A.A., B. COOKSON, R. PAULTON:
Hypertensive Crisis in a Patient on MAOI
Antidepressants Following a Meal of Beef Liver.
C.M.A. Journal 102, 1394 (1970)
5. CATTABENI, C.M., E. MAROZZI, F. LODI:
Systematische chemisch-analytische Beobachtungen
über Fäulnisveränderungen mit Berücksichtigung
einiger Probleme der gerichts-toxikologischen
Diagnostik.
Acta Med. leg. soc. 15, 31 (1962)
6. EMMERLING, O.:
Beitrag zur Kenntniss der Eiweißfäulnis.
Ber. dtsh. chem. Ges. 29, 2721 (1896)

7. FULTON, C.C.:
Putrefactive Bases.
Bull. TIAFT 4, Nr. 1, 1 (1967)
8. GOLDBAUM, D.F., M.A. WILLIAMS:
Methode zur schnellen Isolierung basischer
Arzneimittel aus Geweben, sowie deren Reini-
gung und Identifizierung.
J. Forens. Sci. 4, 144 (1959)
9. JATZKEWITZ, H.:
Ein klinisches Verfahren zur Bestimmung
von basischen Suchtmitteln im Harn.
Z. Physiol. Chem. 292, 94 (1953)
10. KAEMPE, B.:
Interfering Substances by Determination
of Poisons in Autopsy Material.
II. Tyramine
Acta pharmacol. et toxicol. 21, 333 (1964)
11. KAEMPE, B.:
Interfering Substances by Determination
of Poisons in Autopsy Material.
IV. Tryptamine
Acta pharmacol. et toxicol. 22, 126 (1965)
12. KAEMPE, B.:
Substances Interfering with Determination
of Drugs and Poisons in Autopsy Material.
Dansk Tidsskrift for Farmaci 41, 1 (1967)

13. MAROZZI, E., M.L. BOISIO:
Sostanze di origine endogena putrefattiva
e ricerca chimico-tossicologica dei veleni
organici.
Minerva med. 89, 55 (1969)
14. MAROZZI, E., F. LODI:
Cromatografia su carta die estratti di organi,
studio della putrefazione e delle sue possi-
bili interferenze sui risultati delle indagini
chimico-tossicologiche.
Riv. Med. leg. 4, 468 (1962)
15. SASAKI, T., I. OTSUKA:
Über den Abbau des l-Tryptophans durch Proteus-
bakterien.
Biochem. Z. 121, 167 (1921)
16. SCHMIDT, G.:
Postmortale Veränderungen von Arzneistoffen und
Giften in Organen und Körperflüssigkeiten ein-
schließlich Neubildung von Störsubstanzen.
Gadamer's Lehrbuch d. chem. Tox. u. Anleit. z.
Ausmittlung der Gifte I,1, 189 (1969)
Vandenhoeck u. Ruprecht, Göttingen
17. SPECHT, W.:
Chemische Abbaureaktionen bei der Leichen-
zersetzung.
Ergeb. Allgem. Path. u. Path. Anat. 33, 138 (1937)
18. WEINIG, E., G. SCHMIDT:
Die Identifizierung der Bernsteinsäure
bei der toxikologischen Analyse.
Palmieri-Festschrift
Idelson, Napoli 189 (1961)

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas, eines Arbeitsplatzes in seinem Institut und die Übernahme des Korreferates meinen verbindlichen Dank auszusprechen.

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die zahlreichen Anregungen und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 11. August 1946 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Horst Büttner und seiner Ehefrau Günna, geb. Marx, in Bramel, Kreis Wesermünde, geboren. Ostern 1953 wurde ich in die Volksschule Bramel eingeschult. 1957 wechselte ich auf die Wilhelm-Raabe-Schule, Bremerhaven, über, an der ich im Frühjahr 1966 die Reifeprüfung ablegte. Seit dem Sommersemester 1966 studierte ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg Zahnmedizin und bestand am 25.10.1971 das Zahnmedizinische Staatsexamen.

Seit November 1970 bin ich verheiratet.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
